基于均匀设计与支持向量回归的棉铃虫幼虫全纯人工饲料配方优化

周世豪[1,2]，李　俊[2]，姚润贤[1,2]，张　星[1,2]，袁哲明[1,2,*]
（1. 湖南省作物种质创新与资源利用重点实验室，长沙 410128；2. 湖南农业大学生物安全科学技术学院，长沙 410128）

摘要：昆虫全纯人工饲料配方是精细研究昆虫营养生理的前提。本研究以棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫为供试对象，以本研究室前期发展的多因素多水平配方优化实验设计与分析方法 UD-SVR 为指导，以略加修改的苹浅褐卷蛾 *Epiphyas postvittana* 幼虫全纯人工饲料为初始配方，先优化 20 种天然氨基酸，再优化蔗糖等其他 8 种非氨基酸营养组分，经 4 轮 97 个处理组合，获得一个棉铃虫幼虫全纯人工饲料满意配方，平均蛹重、化蛹率分别由初始配方的 0.160 g 和 10.4% 高效增至满意配方的 0.255 g 和 97.9%。该全纯人工饲料满意配方的获得，不但再次证实了 UD-SVR 方法的有效性，同时为进一步深入研究棉铃虫营养需求与营养代谢奠定了基础。

关键词：棉铃虫；全纯人工饲料；均匀设计；支持向量回归；配方优化
中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2012)01-0124-09

Optimization of chemically defined diet for larvae of the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) based on uniform design and support vector regression

ZHOU Shi-Hao[1,2], LI Jun[2], YAO Run-Xian[1,2], ZHANG Xing[1,2], YUAN Zhe-Ming[1,2,*] (1. Hunan Provincial Key Laboratory of Crop Germplasm Innovation and Utilization, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. College of Bio-safety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: In order to get a satisfying formula of the chemically artificial diet for larvae of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, we used UD-SVR, an experimental design and analysis method reported by our preliminary studies, for formula optimization. Based on the benchmark diet of a chemically artificial diet for the larvae of the light brown apple moth, *Epiphyas postvittana*, the contents of 20 natural amino acids were optimized first, and the contents of 8 non-amino acid nutrients including sucrose were optimized then. After 4 rounds of optimization with total 97 schemes, an optimal formula of the chemically artificial diet for the cotton bollworm larvae was obtained. When the *H. armigera* larvae fed on this diet, their mean pupal weight and the pupation rate were 0.255 g and 97.9%, respectively; when the larvae fed on the benchmark diet, however, the above two indices were only 0.160 g and 10.4%, respectively. The results reconfirmed the effectiveness of UD-SVR in the complex prescription optimization. More importantly, the optimized chemically artificial diet for the cotton bollworm provides the basis for further research on the requirement and metabolism of nutrition compounds in the moth.

Key words: *Helicoverpa armigera*; chemically defined diet; uniform design; support vector regression; prescription optimization

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)是一种世界性分布的杂食性多寄主害虫，因其危害严重、抗药性发展快、抗逆能力强等原因成为昆虫生理、抗药性与防治技术等研究的重要实验昆虫(卓乐姒等，1981；吴坤君，1985)。为实现室内种群的继代饲养，获得大量生长健壮、发育整齐的试虫，人工

基金项目：湖南省杰出青年基金(10JJ1005)；高等学校博士点基金(200805370002)；2011 年湖南省财政厅科研项目；2011 年湖南农业大学大学生科技创新基金项目(2011113)

作者简介：周世豪，男，1986 年生，海南文昌人，硕士研究生，主要从事昆虫生理生化研究，E-mail：zsh88200939@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：zhmyuan@sina.com

收稿日期 Received：2011-08-18；接受日期 Accepted：2011-12-23

饲料是关键。昆虫人工饲料大致可分 3 类：(1)实用饲料，组分主要由未经提纯的天然动植物材料组成；(2)半纯饲料，多数组分为纯化学物，另含一种或几种粗制动植物材料；(3)全纯饲料，又称化学规定饲料，所有组分均为纯化学物(王延年等，1984)。棉铃虫实用饲料与半纯饲料已有较多报道(卓乐姒等，1981；吴坤君，1985；梁革梅等，1999)，本实验室前期基于均匀设计(uniform design，UD)与支持向量回归(support vector regression，SVR)发展了一种新的多因素多水平配方优化实验设计与分析方法 UD-SVR，并藉此获得了一个考虑 6 因素(黄豆粉、麦麸、酵母浸膏、蔗糖、菜籽油、VC)变动的棉铃虫幼虫半纯人工饲料满意配方，平均蛹重达 0.304 g(李俊等，2010)。为深入研究棉铃虫营养需求、营养代谢以及满足其他特殊研究需要，有必要进一步优化获得棉铃虫幼虫全纯人工饲料配方(姜兴印等，2000)。昆虫全纯人工饲料配方优化涉及因素更多(往往在 30 个因素以上)，优化难度大；已报道的昆虫全纯人工饲料配方多见于同翅目褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Mitsuhashi and Koyama，1971；Hou and Lin，1979；傅强等，2001)、麦长管蚜 *Sitobion avenae* (Fabricius)(陈巨莲等，2000)、棉蚜 *Aphis gossypii* (Auclair，1967)等种类，棉铃虫幼虫全纯人工饲料配方未见报道。本研究选取与棉铃虫同为鳞翅目蛾类的苹浅褐卷蛾 *Epiphyas postvittana* 幼虫全纯人工饲料配方略加修改后作为初始配方(Singh，1974)，应用 UD-SVR 优化棉铃虫幼虫全纯人工饲料配方，结果报道如下。

1　材料与方法

1.1　虫源和养虫管理

棉铃虫卵块购自武汉科诺生物农药有限公司。初孵幼虫单头置于 24 孔 Corning 细胞培养板中(每孔直径 15.6 mm，生长面积 1.9 cm^2)中，饲以优化半纯人工饲料(李俊等，2010)；幼虫 2 龄末～3 龄初转至 6 孔 Corning 细胞培养板(每孔直径 34.8 mm，生长面积 9.5 cm^2)，单孔单虫，换饲全纯人工饲料并适时更换，至幼虫化蛹。培养板置于温度 27±1℃，RH 60%～80%，光周期 14L∶10D 的光照培养箱中。

1.2　供试试剂

所有试剂均购自上海生工生物工程技术服务有限公司。

1.3　半纯人工饲料满意配方、全纯人工饲料初始配方及其配制

以前期优化的棉铃虫幼虫半纯人工饲料满意配方为对照 CK_0(100 mL 组分：黄豆粉 17.2 g，麦麸 1.44 g，酵母浸膏 6.8 g，蔗糖 2.12 g，菜籽油 0.2 滴，维生素 C 片 4 粒，21 金维他片 0.1 粒、琼脂 1.2 g、山梨酸 0.16 g、冰乙酸 0.1 mL)，配制方法参见李俊等(2010)。以略加修改的与棉铃虫同为鳞翅目蛾类的苹浅褐卷蛾幼虫全纯人工饲料为初始配方(CK_1)，其营养组成(100 mL)与配制方法如下：

Ⅰ组：20 种天然氨基酸，包括精氨酸(Arg)180 mg、蛋氨酸(Met)95 mg、亮氨酸(Leu)225 mg、异亮氨酸(Ile)130 mg、赖氨酸(Lys)280 mg、苯丙氨酸(Phe)155 mg、苏氨酸(Thr)145 mg、色氨酸(Trp)130 mg、缬氨酸(Val)137 mg、组氨酸(His)145 mg、丝氨酸(Ser) 80 mg、酪氨酸(Tyr)145 mg、脯氨酸(Pro)144 mg、天冬氨酸(Asp)265 mg、半胱氨酸(Cys) 98 mg、谷氨酸(Glu)325 mg、甘氨酸(Gly)135 mg、丙氨酸(Ala)180 mg、天冬酰胺(Asn)90 mg、谷氨酰胺(Gln)90 mg。

Ⅱ组：蔗糖(sucrose)3 000 mg、葡萄糖(glucose)500 mg；自配韦氏盐(Wesson salt mixture)1 000 mg(王延年等，1984)和纤维素粉(cellulose powder)2 000 mg。

Ⅲ组：定型剂琼脂粉(agar)3 000 mg。

Ⅳ组：不适于高温高压处理的维生素类 12 种，包括烟酰胺(vitamin PP) 4 mg、生物素(vitamin H) 0.1 mg、盐酸吡哆醇(vitamin B_6)1 mg、盐酸硫胺素(vitamin B_1)1 mg、核黄素(vitamin B_2)2 mg、氯化胆碱(choline chloride)300 mg、肌醇(inose)40 mg、钴胺素(vitamin B_{12})0.1 mg、泛酸钙(vitamin B_5) 4 mg、抗坏血酸(vitamin C)600 mg、α-生育酚(vitamin E)15 mg 和叶酸(vitamin M)1 mg；防腐剂 4 种，包括山梨酸(sorbic acid)0.1 g、37% 甲醛(formaldehyde)0.05 mL、链霉素(streptomycin) 15 mg和卡拉霉素(kanamycin)8 mg。用双蒸水配成维生素防腐剂混合液待用。

Ⅴ组：需乳化配制的脂类及相应乳化剂，包括亚油酸(linoleic acid)240 μL、胆固醇(cholesterol) 200 mg 和吐温-80(Tween 80)300 μL。

配制方法(100 mL)：Ⅴ组于 30～40 mL 70℃的 70% 乙醇中乳化，待离散均匀后转至 80～90℃水浴

锅上蒸除乙醇，无明显酒精气味后取出，60～70℃保温待用。Ⅲ组琼脂粉于50～60 mL双蒸水中煮沸融化待用。Ⅰ，Ⅱ和Ⅴ组分别倒入Ⅲ组，混合均匀，高压蒸汽灭菌30 min，温度降至50℃左右时用微量移液枪加入Ⅳ组维生素防腐剂混合液，定容至100 mL，快速混匀后4℃冷藏备用。

1.4 均匀设计、支持向量回归与 LIBSVM 2.8 软件包

均匀设计仅考虑试验点的均匀分散性，能使各因素各水平只做一次试验，因而试验次数可大大减少(方开泰，1980)。本文均匀设计结果由 DPS 软件给出(唐启义和冯明光，2002)，每组合供试幼虫48头。均匀设计后续回归分析采用支持向量机回归分析基于结构风险最小，较好地解决了小样本、非线性、过拟合、维数灾难和局部极小点等问题，泛化推广能力优异(Vapnik，1995；邓乃扬和田英杰，2004)。本文结合实验进程分步介绍，详细流程参见李俊等(2010)。

LIBSVM 2.8 软件包中的 SVR 功能需常用到4个程序：Svmscale 用于对原始数据规格化，Svmtrain 用于训练，Svmpredict 用于预测，Gridregression. py 用于自动搜索核函数最优参数 c，g，p($c\in[-1, 6]$，$g\in[-8, 0]$，$p\in[-8, -1]$，步长均为1)。各程序用法及其参数设置参见 Chang 和 Lin (2001)。

1.5 评价指标

幼虫化蛹后，统计化蛹率，称量每头蛹重，以化蛹率、平均蛹重、化蛹率×平均蛹重作为评判配方优劣的指标。

$\hat{y}_1$ 化蛹率(%)=蛹数/供试幼虫数×100；

$\hat{y}_2$ 平均蛹重(g)=总蛹重/蛹数；

$\hat{y}_3$ 化蛹率×平均蛹重 $=\hat{y}_1\times\hat{y}_2$。

2 结果与分析

2.1 氨基酸组分的第1轮均匀设计优化

以 CK_1 为初始配方，20因素7水平均匀设计得28个处理组合(N_1～N_{28})；均匀设计方案和部分结果见表1。试验中因操作不慎，部分培养板打翻导致供试幼虫混杂，仅10个处理组合及 CK_1 获得结果，不能进行 SVR 建模分析。此时固然可以依表1重做实验，但亦可灵活地根据所获部分处理组合结果调整各因素上下限，重新进行均匀设计。由表1部分处理组合结果可知，最优处理组合 N_4 化蛹率(96.7%)与 CK_1 化蛹率(10.4%)差别明显，但 N_4 平均蛹重(0.189 g)与 CK_1 平均蛹重(0.160 g)相比增加不明显，需进一步优化。最优的两个处理组合 N_4、N_{12} 均显示 Thr 为215 mg，可将其固定；依表1部分结果调整其余19个因素上下限，以 N_4 为下一轮对照(CK_2)，继续优化。

2.2 氨基酸组分的第2轮均匀设计优化

19因素混合水平均匀设计得24个处理组合(N_{29}～N_{52})；均匀设计方案和实测结果见表2。可见，24个处理组合中有11个处理组合平均蛹重优于对照 CK_2，特别是 N_{43} 处理组合平均蛹重达0.232 g，优化效果明显，N_{43} 化蛹率与 CK_2 相比增加趋势放缓。以径向基核为最优核函数，以平均蛹重、化蛹率、平均蛹重×化蛹率为因变量，分别建立 SVR 模型，参照文献(李俊等，2010)进行非线性因子筛选，均得到10个相同保留因子为 Arg，Leu，Ile，Lys，Trp，His，Tyr，Cys，Ala 和 Asn(因变量为化蛹率、平均蛹重×化蛹率的 SVR 模型与因变量为平均蛹重的 SVR 模型结果基本一致，简单起见，后文仅基于因变量为平均蛹重进行分析)。以表2的25个处理组合(包括对照 CK_2)为样本，以10个保留因子为自变量，以双重留一法进行模型评估(袁哲明等，2007)，结果表明该 SVR 模型可以信赖(数据未列出)。UD-SVR-2 单因子效应分析结果显示，10个保留因子最优水平(在本轮均匀设计上下限范围内不外推)依次为 Arg 140 mg，Leu 315 mg，Ile 70 mg，Lys 340 mg，Trp 160 mg，His 110 mg，Tyr 40 mg，Cys 320 mg，Ala 195 mg 和 Asn 180 mg，对应最大预测平均蛹重 $\hat{y}_2=0.232$ g，与实测 N_{43} 处理组合相同，提示保留因子水平(上下限)如不重新调整则进一步优化空间不大；9个非保留因子最优水平依次为 Met 105 mg，Phe 137.5 mg，Val 210 mg，Ser 250 mg，Pro 180 mg，Asp 39 mg，Glu 108 mg，Gly 165 mg 和 Gln 50 mg。

UD-SVR-2 分析结果暗示10个保留因子水平(上下限)需重新调整。参照文献(李俊等，2010)进一步以 UD-SVR-1 进行频次统计寻优(数据未列出)，结果显示：Arg 上限应超过140 mg，调整上下限为260～140 mg；Leu 应小于315 mg，调整上下限为315～270 mg；Ile 应小于70 mg，调整上下限为70～30 mg；Lys 应小于340 mg，调整上下限为160～80 mg；Trp 应小于160 mg，调整上下限为160～40 mg；His 应小于110 mg，调整上下限为110～30 mg；Tyr 应小于40 mg，调整上下限为40～20 mg；Cys

表 1　第 1 轮均匀设计方案及实测棉铃虫化蛹率与平均蛹重

Table 1　The pupation rate and mean pupal weight of *Helicoverpa armigera* for the 1st round uniform design

处理组合 Scheme	N_1	N_2	N_3	N_4	N_5	N_6	N_7	N_8	N_9	N_{10}	N_{11}	N_{12}	N_{13}	N_{14}	N_{15}	N_{16}	N_{17}	N_{18}	N_{19}	N_{20}	N_{21}	N_{22}	N_{23}	N_{24}	N_{25}	N_{26}	N_{27}	N_{28}	CK_1
Arg	300	260	100	100	140	220	260	300	220	220	180	140	100	60	180	140	180	180	100	60	140	220	260	300	60	300	60	260	180
Met	135	35	55	75	55	155	155	115	115	35	155	115	95	75	95	35	35	95	115	135	135	55	135	75	155	55	95	75	95
Leu	270	135	315	135	225	315	270	360	90	90	180	315	315	270	360	270	360	90	90	180	225	225	135	360	225	180	180	135	225
Ile	70	190	220	100	100	130	70	130	160	160	190	220	190	100	130	160	40	40	40	190	160	70	220	220	40	130	100	70	130
Lys	100	100	100	340	400	280	460	220	160	460	460	400	220	280	160	220	460	280	280	160	400	220	340	340	100	400	340	160	280
Phe	260	225	155	120	190	50	155	50	190	50	260	155	190	225	120	85	120	190	50	85	225	225	155	260	85	85	260	120	155
Thr	250	75	145	215	75	145	110	40	180	180	40	215	215	40	145	75	180	250	40	250	180	215	110	110	75	250	145	110	145
Trp	130	160	100	190	70	40	130	220	100	160	220	160	100	190	220	40	160	40	130	190	130	220	190	70	100	40	70	70	130
Val	167	197	77	227	197	47	227	197	137	137	47	197	47	107	167	227	77	227	77	107	167	107	137	107	167	47	137	77	137
His	110	145	75	110	215	250	40	145	250	75	75	215	110	250	40	110	215	180	145	180	75	180	250	180	215	145	40	40	145
Ser	20	120	40	40	20	140	60	100	60	60	80	140	80	40	20	120	80	80	100	120	120	100	40	100	60	20	140	140	80
Tyr	40	180	215	145	75	180	110	215	75	40	145	75	145	110	75	145	180	180	40	110	215	250	250	40	215	250	250	110	145
Pro	144	109	214	179	249	144	39	249	249	109	179	74	39	74	74	144	214	179	39	214	249	39	144	179	109	74	109	214	144
Asp	100	155	100	100	265	155	265	265	210	375	210	155	375	320	430	320	210	430	155	320	375	210	430	430	375	265	100	320	265
Cys	98	38	78	118	138	98	58	118	98	138	158	158	138	78	38	98	38	38	78	58	58	138	118	78	158	58	118	158	98
Glu	405	405	165	485	565	565	85	85	85	245	245	165	485	245	565	165	325	165	485	325	565	405	485	325	325	245	85	405	325
Gly	225	165	135	45	195	165	135	225	75	195	45	105	225	165	75	45	165	225	105	195	105	75	135	45	75	105	195	135	135
Ala	180	220	100	260	100	140	60	260	300	180	140	220	260	300	140	60	220	140	100	60	260	60	100	180	220	300	180	300	180
Asn	90	110	50	50	110	30	70	70	150	30	110	90	130	30	150	130	150	50	130	90	30	50	130	70	70	110	150	90	90
Gln	150	50	110	50	70	30	30	90	30	70	90	130	30	130	90	150	150	110	110	50	130	110	150	50	70	90	70	130	90
$\hat{y}1$	–	95.0	–	96.7	–	–	–	–	95.0	73.3	–	96.7	–	–	90.0	50.0	–	–	–	1.7	–	6.7	5.0	–	–	–	–	–	10.4
$\hat{y}_2$	–	0.181 a	–	0.189 a	–	–	–	–	0.180 a	0.153 a	–	0.181 a	–	–	0.162 a	0.112 b	–	–	–	0.113 b	–	0.110 b	0.110 b	–	–	–	–	–	0.160 a
$\hat{y}_3$	–	0.172	–	0.182	–	–	–	–	0.171	0.112	–	0.175	–	–	0.146	0.056	–	–	–	0.002	–	0.007	0.005	–	–	–	–	–	0.017

N_{1-28}：处理组合 Schemes based on uniform design (UD) (mg/100mL)；CK_1：对照基准配方 Benchmark formulation for the control；$\hat{y}_1$：化蛹率 Pupation rate (%)；$\hat{y}_2$：平均蛹重 Mean pupal weight (g)；$\hat{y}_3$：化蛹率×平均蛹重 $\hat{y}_3=\hat{y}_1\times\hat{y}_2$. 平均蛹重数据后有不同字母者表示 0.05 水平上差异显著(Duncan 氏新复极差法)；下同。Difference letters after the mean pupal weight mean significant difference at the 5% level by Duncan's new multiple range test. The same below.

表 2 第 2 轮均匀设计方案及实测棉铃虫化蛹率与平均蛹重

Table 2 The pupation rate and mean pupal weight of *Helicoverpa armigera* for the 2nd round uniform design

处理组合 Scheme	N_{29}	N_{30}	N_{31}	N_{32}	N_{33}	N_{34}	N_{35}	N_{36}	N_{37}	N_{38}	N_{39}	N_{40}	N_{41}	N_{42}	N_{43}	N_{44}	N_{45}	N_{46}	N_{47}	N_{48}	N_{49}	N_{50}	N_{51}	N_{52}	CK_2
Arg	100	100	140	140	100	140	140	100	100	100	140	140	140	100	140	140	140	100	100	140	140	100	100	100	100
Met	75	95	75	75	115	95	75	75	115	115	75	95	115	75	115	95	75	95	95	115	115	95	95	115	75
Leu	270	135	225	90	135	315	180	315	270	315	225	270	315	270	180	180	90	90	180	135	225	135	90	225	135
Ile	100	220	160	160	100	70	100	70	190	220	190	190	130	130	70	100	220	130	190	220	160	70	130	160	100
Lys	340	400	400	340	400	400	400	400	340	400	340	340	340	340	340	340	400	340	400	340	400	340	400	400	340
Phe	120	120	155	155	120	155	155	120	155	155	120	120	120	155	155	120	120	120	155	155	120	155	120	155	120
Thr	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215
Trp	160	160	160	190	160	160	190	190	160	190	190	160	190	160	160	190	160	190	190	190	160	190	160	190	190
Val	227	197	197	227	197	227	197	197	227	227	227	197	197	197	197	227	227	197	227	197	227	227	227	197	227
His	215	110	110	110	145	215	180	110	110	145	145	215	180	215	145	110	180	180	215	215	145	145	180	180	110
Ser	215	180	75	145	75	145	215	250	110	180	180	110	145	145	250	110	75	180	215	250	215	75	250	110	40
Tyr	60	40	80	40	60	60	80	60	80	60	40	60	80	40	40	40	60	80	80	60	80	80	40	40	145
Pro	75	75	145	180	110	110	75	145	75	180	75	180	110	180	145	145	110	180	145	110	180	110	145	75	179
Asp	74	74	39	74	39	39	39	74	39	39	39	74	74	39	74	39	74	39	74	39	74	74	39	74	100
Cys	320	375	320	375	430	375	375	430	375	320	430	375	375	430	320	320	320	320	430	430	430	430	375	320	118
Glu	58	138	98	58	58	58	158	98	118	158	118	158	138	118	138	98	118	78	98	78	78	158	138	78	485
Gly	165	85	85	165	165	85	245	245	245	165	85	245	85	165	85	245	165	85	85	245	165	165	245	245	45
Ala	165	165	165	195	195	195	195	195	195	165	195	195	165	165	195	165	195	195	195	165	165	165	165	165	260
Asn	140	140	140	140	180	100	180	140	140	180	100	100	180	180	140	180	180	100	180	140	100	100	100	100	50
Gln	130	50	150	150	130	50	110	90	70	110	110	130	150	70	90	50	70	70	130	90	50	90	150	110	50
$\hat{y}_1$	79.2	56.3	39.6	43.8	50	45.8	31.3	33.3	39.6	27.1	52.1	54.2	33.3	48	98	95.8	29.2	25	14.6	29.2	41.7	27	23	16.7	95.8
$\hat{y}_2$	0.214 bc	0.200 cd	0.180 ef	0.199 d	0.200 cd	0.199 d	0.181 ef	0.182 e	0.186 de	0.134 i	0.200 cd	0.200 cd	0.178 efg	0.199 d	0.232 a	0.220 ab	0.167 fg	0.164 g	0.142 hi	0.167 fg	0.191 de	0.166 fg	0.164 g	0.149 h	0.189 de
$\hat{y}_3$	0.170	0.113	0.071	0.087	0.100	0.091	0.057	0.060	0.074	0.036	0.104	0.109	0.06	0.096	0.227	0.211	0.049	0.041	0.021	0.049	0.080	0.045	0.038	0.025	0.181

N_{29-52}：处理组合 Schemes based on uniform design（UD）（mg/100 mL）；CK_2：对照（表 1 中的最佳处理组合）Control that is the best scheme in Table 1.

应小于 320 mg，调整上下限为 320 ~ 80 mg；Ala 应大于 195 mg，调整上下限为 300 ~ 140 mg；Asn 应大于 180 mg，调整上下限为 220 ~ 140 mg。

固定 9 个非保留因子在 UD-SVR-2 推测的最优水平，对 10 个保留因子以 UD-SVR-1 指导调整的上下限进行下一轮均匀设计，以 N_{43} 为下一轮对照（CK_3），继续优化。

2.3　氨基酸组分的第 3 轮均匀设计优化

10 因素混合水平均匀设计得 20 个处理组合（N_{53} ~ N_{72}），均匀设计方案和实测结果见表 3。可见，最优处理组合 N_{59} 平均蛹重（0.241 g）较对照 CK_3 平均蛹重（0.230 g）又有一定程度增加，N_{59} 中 8 个保留因子的水平符合上一轮 UD-SVR-1 频次统计寻优分析结果，仅 2 个有偏差（上一轮 UD-SVR-1 指出 Ala 应大于 195 mg 而 N_{59} 中实为 140 mg，上一轮 UD-SVR-1 指出 Asn 应大于 180 mg 而 N_{59} 中实为 160 mg），再次显示 UD-SVR 不仅优化高效而且解释性强。上一轮 UD-SVR-2 已提示保留因子水平如不调整则进一步优化空间不大，本轮保留因子水平重新调整后 20 个处理组合仅一个处理组合 N_{59} 优于对照 CK_3 且蛹重增幅放缓，故氨基酸组分不再优化。以 N_{59} 为下一轮对照 CK_4，进一步优化蔗糖等 8 种非氨基酸营养组分。

2.4　蔗糖等 8 种非氨基酸营养组分的均匀设计

非氨基酸营养组分中考虑肌醇、蔗糖、葡萄糖、纤维素粉、抗坏血酸、胆固醇、亚油酸、氯化胆碱 8 个组分进行优化，其余组分用量很少固定为 CK_1 对应含量。8 因素混合水平均匀设计得 24 个处理组合（N_{73} ~ N_{96}），均匀设计方案和实测结果见表 4。结果表明，24 个处理组合中最优组合 N_{81} 平均蛹重达 0.255 g，较对照 CK_4（平均蛹重 0.241 g）又有一定程度增加，N_{81} 化蛹率（97.9%）则与对照 CK_4 一致。相对于初始基准配方对照 CK_1（平均蛹重 0.160 g）增加 59.38%，且化蛹率也大幅提高（CK_1 = 10.4%），优化效果明显，所获配方可以满意，优化终止。

3　讨论

在动植物营养、发酵工程等诸多领域中，发展新的实验设计与分析方法，通过实施尽可能少的实验获得较优配方对复杂多因素多水平实验极为重要（方开泰，1980；唐启义和冯明光，2002；李俊等，2010）。本研究以略加修改的苹浅褐卷蛾幼虫全纯人工饲料为初始配方，考虑 20 种氨基酸营养组分和 8 种非氨基酸营养组分共 28 个因素，经 UD-SVR 指导，仅经 4 轮 97 个处理组合（包括初始配方 CK_1），即获得一个棉铃虫幼虫全纯人工饲料满意配方，其平均蛹重由初始配方的 0.160 g 高效增至满意配方的 0.255 g，增加 59.38%；其化蛹率由初始配方的 10.4% 高效增至满意配方的 97.9%，增加 841.35%，再次证实 UD-SVR 预测精度高、指导性强、可解释性好、优化高效。满意配方（100 mL）组成为：优化的 20 种氨基酸含量依次为 Arg 230 mg，Met 105 mg，Leu 300 mg，Ile 70 mg，Lys 100 mg，Phe 137.5 mg，Thr 215 mg，Trp 160 mg，Val 210 mg，His 90 mg，Ser 250 mg，Tyr 40 mg，Pro 180 mg，Asp 39 mg，Cys 80 mg，Glu 108 mg，Gly 165 mg，Ala 140 mg，Asn 160 mg 和 Gln 50 mg。优化的 8 种非氨基酸营养组分依次为蔗糖 4 000 mg、葡萄糖 500 mg、氯化胆碱 300 mg、肌醇 80 mg、抗坏血酸 400 mg、纤维素粉 3 000 mg、亚油酸 340 μL、胆固醇 100 mg。其他用量较少未优化组分依次为烟酰胺 4 mg、生物素 0.1 mg、盐酸吡哆醇 1 mg、盐酸硫胺素 1 mg、核黄素 2 mg、钴胺素 0.1 mg、泛酸钙 4 mg、α-生育酚 15 mg、叶酸 1 mg；防腐剂山梨酸 0.1 g、37 % 甲醛 0.05 mL、链霉素 15 mg、卡拉霉 8 mg；自配韦氏盐 1 000 mg、琼脂粉 3 000 mg、吐温-80 300 μL。

棉铃虫幼虫全纯人工饲料满意配方为进一步深入研究其营养需求（例如棉铃虫幼虫必需氨基酸分析）、营养代谢以及满足其他特殊研究需要奠定了基础。但是，其平均蛹重仍明显低于前期本实验室获得的棉铃虫幼虫半纯人工饲料满意配方（CK_0 平均蛹重 0.304 g，化蛹率 97.9%）（李俊等，2010），其成虫产卵量、卵孵化率等繁殖指标相比半纯人工饲料满意配方也有下降趋势，提示半纯饲料主要组分黄豆粉、麦麸、酵母浸膏中可能含有全纯人工饲料所不包含的特殊物质（例如植物次生性物质），这有待进一步研究。

参考文献（References）

Auclair JL, 1967. Effects of pH and sucrose on rearing the cotton aphid, *Aphis gossypii*, on a germ-free and holidic diet. *Journal of Insect Physiology*, 13: 431 – 446.

Chang CC, Lin CJ, 2001. LIBSVM: a library for support vector machines. *ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology*, 2(27): 1 – 27.

Chen JL, Ni HX, Ding HJ, Sun JR, 2000. Studies on a chemically

表 3　第 3 轮均匀设计方案及实测棉铃虫化蛹率与平均蛹重

Table 3　The pupation rate and mean pupal weight of *Helicoverpa armigera* for the 3rd round uniform design

处理组合 Scheme	N_{53}	N_{54}	N_{55}	N_{56}	N_{57}	N_{58}	N_{59}	N_{60}	N_{61}	N_{62}	N_{63}	N_{64}	N_{65}	N_{66}	N_{67}	N_{68}	N_{69}	N_{70}	N_{71}	N_{72}	CK_3
Arg	140	200	260	170	170	260	230	200	170	200	140	230	260	200	170	230	260	140	140	230	140
Met	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	105	115
Leu	300	300	270	315	285	285	300	300	270	315	300	270	270	315	285	315	315	270	285	285	180
Ile	70	30	30	30	30	30	70	70	70	70	30	70	30	30	70	30	70	70	30	70	70
Lys	100	140	140	140	120	80	100	160	120	80	100	160	120	80	100	80	120	160	160	140	340
Phe	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	155
Thr	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215	215
Trp	160	160	130	70	100	130	160	100	130	40	40	70	70	100	40	100	70	160	130	40	160
Val	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210	197
His	30	90	70	70	30	50	90	110	50	30	90	50	70	70	110	50	110	110	90	30	145
Ser	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Tyr	20	40	40	20	40	20	40	40	20	20	40	20	20	40	40	20	20	20	40	40	40
Pro	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	145
Asp	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	74
Cys	260	140	200	80	320	260	80	140	80	80	260	260	320	140	320	200	320	200	200	140	320
Glu	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	138
Gly	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	85
Ala	220	180	260	220	140	260	140	260	300	180	300	260	180	300	180	300	220	140	220	140	195
Asn	180	220	220	200	200	160	160	140	140	160	200	140	140	180	180	200	180	220	160	220	140
Gln	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	90
$\hat{y}_1$	54.2	47.9	62.5	68.8	79.2	75.0	97.9	93.8	85.4	37.5	64.6	72.9	47.9	45.8	41.7	47.9	79.2	91.7	81.2	45.8	98.0
$\hat{y}_2$	0.161 ghij	0.165 fghi	0.162 ghij	0.165 fghi	0.173 efg	0.178 def	0.241 a	0.220 b	0.191 d	0.163 fghij	0.151 ij	0.154 hij	0.148 j	0.149 j	0.173 efg	0.156 hij	0.205 c	0.185 de	0.167 fgh	0.184 de	0.230 ab
$\hat{y}_3$	0.087	0.079	0.101	0.113	0.137	0.134	0.236	0.206	0.163	0.061	0.098	0.112	0.071	0.068	0.072	0.075	0.162	0.17	0.136	0.084	0.225

N_{53-72}：处理组合 Schemes based on uniform design（UD）（mg/100 mL）；CK_3：对照（表 2 中的最佳处理组合）Control that is the best scheme in Table 2.

表 4　第 4 轮均匀设计方案及实测棉铃虫化蛹率与平均蛹重

Table 4　The pupation rate and mean pupal weight of *Helicoverpa armigera* for the 4th round uniform design

处理组合 Scheme	N_{73}	N_{74}	N_{75}	N_{76}	N_{77}	N_{78}	N_{79}	N_{80}	N_{81}	N_{82}	N_{83}	N_{84}	N_{85}	N_{86}	N_{87}	N_{88}	N_{89}	N_{90}	N_{91}	N_{92}	N_{93}	N_{94}	N_{95}	N_{96}	CK_4
Inose	40	40	80	80	80	40	40	80	80	40	40	80	80	40	80	40	40	80	40	40	80	80	40	80	40
Sucrose	3 000	4 000	3 000	5 000	4 000	2 000	4 000	2 000	4 000	3 000	5 000	5 000	3 000	2 000	3 000	2 000	5 000	5 000	4 000	5 000	4 000	2 000	3 000	2000	3000
Glucose	800	800	200	800	500	500	200	800	500	500	500	800	800	200	200	500	800	200	200	200	500	500	800	200	500
Cellulose powder	1 000	2 000	1 000	3 000	1 000	3 000	1 000	2 000	3 000	3 000	1 000	1 000	2 000	2 000	2 000	1 000	2 000	2 000	3 000	2 000	3 000	1 000	3 000	3000	2000
Vitamin C	400	800	400	400	600	400	600	600	400	800	800	600	800	800	400	400	600	800	600	400	800	800	600	600	600
Cholesterol	300	100	200	300	400	400	300	100	100	200	400	200	400	300	400	200	400	200	100	100	300	100	200	300	200
Iinoleic acid	340	240	440	140	240	240	140	440	340	340	440	340	140	340	340	140	440	140	440	240	440	240	140	240	240
Choline chloride	300	100	200	200	100	200	300	200	300	300	200	100	200	100	100	100	300	300	200	200	100	300	100	300	300
$\hat{y}_1$	93.8	93.8	97.9	95.8	95.8	93.8	97.9	93.8	97.9	97.9	95.8	95.8	91.7	97.9	95.8	97.9	93.8	95.8	95.8	95.8	1.0	95.8	97.9	93.8	97.9
$\hat{y}_2$	0.219 efgh	0.222 defg	0.223 def	0.227 cdef	0.209 gh	0.206 h	0.250 def	0.220 defgh	0.255 a	0.230 bcde	0.215 fgh	0.224 def	0.224 def	0.231 bcde	0.232 bcde	0.232 bcde	0.225 def	0.229 def	0.225 def	0.227 def	0.240 bc	0.220 def	0.234 bcd	0.200 bcdef	0.240 b
$\hat{y}_3$	0.205	0.208	0.219	0.218	0.200	0.194	0.218	0.206	0.250	0.225	0.206	0.214	0.205	0.226	0.222	0.227	0.211	0.219	0.216	0.217	0.240	0.210	0.229	0.188	0.235

N_{73-96}：处理组合 Schemes based on uniform design（UD）（mg/100 mL or μL/100 mL）；CK_4：对照（表 3 中的最佳处理组合）Control that is the best scheme in Table 3.

defined diet of English grain aphid. *Scientia Agricultura Sinica*, 33 (3): 54 -59. [陈巨莲, 倪汉祥, 丁红建, 孙京瑞, 2000. 麦长管蚜全纯人工饲料的研究. 中国农业科学, 33(3): 54 -59]

Deng NY, Tian YJ, 2004. Support Vector Machine - A New Method in Data Mining. Science Press, Beijing. 77 -162, 224 -272. [邓乃扬, 田英杰, 2004. 数据挖掘中的新方法——支持向量机. 北京: 科学出版社. 77 -162, 224 -272]

Fang KT, 1980. The application of uniform design - number-theoretic method in experimental design. *Acta Mathematicae Applicatae Sinica*, 3(4): 363 -372. [方开泰, 1980. 均匀设计——数论方法在试验设计的应用. 应用数学学报, 3(4): 363 -372]

Fu Q, Zhang ZT, Hu C, 2001. Effects of dietary amino acids on free amino acid pools in the body and honeydew of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Chinese Journal of Rice Science*, 15(4): 298 -302. [傅强, 张志涛, 胡萃, 2001. 饲料氨基酸对褐飞虱及其蜜露游离氨基酸的影响. 中国水稻科学, 15(4): 298 -302]

Hou RF, Lin LC, 1979. Artificial rearing of the rice green leafhopper, *Nephotettix cincticeps*, on a holidic diet. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 25: 158 -164.

Jiang XY, Wang KY, Yi MQ, 2000. A review on artificial diets of cotton bollworm. *Entomological Knowledge*, 37(3): 183 - 185. [姜兴印, 王开运, 仪美芹, 2000. 棉铃虫人工饲料概述. 昆虫知识, 37(3): 183 -185]

Li J, Tan XS, Tan SQ, Yuan ZM, Xiong XY, 2010. Application of improved support vector machine in the optimization of artificial diet for the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomologica Sinica*, 3(4): 420 -426. [李俊, 谭显胜, 谭泗桥, 袁哲明, 熊兴耀, 2010. 改进支持向量机在棉铃虫人工饲料配方优化中的应用. 昆虫学报, 53(4): 420 -426]

Liang GM, Tan WJ, Guo YY, 1999. The improvement of artificial breeding techniques in cotton bollworm. *Plant Protection*, 25(2): 15 -17. [梁革梅, 谭维嘉, 郭予元, 1999. 人工饲养棉铃虫技术的改进. 植物保护, 25(2): 15 -17]

Mitsuhashi J, Koyama K, 1971. Rearing of planthoppers on a holidic diet. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 14: 93 -98.

Singh P, 1974. A chemically defined medium for rearing *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera: Tortricidae). *New Zealand Journal Zoology*, 1(2): 241 -243.

Tang QY, Feng MG, 2002. DPS Data Processing System for Practical Statistics. Science Press, Beijing. 102. [唐启义, 冯明光, 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社. 102]

Vapnik VN, 1995. The Nature of Statistical Learning Theory. Springer Verlag Press, New York. 87 -189.

Wang YN, Zheng ZQ, Zhou YS, 1984. Handbook of Insect Artificial Diet. Shanghai Science and Technology Press, Shanghai. 1 -2, 286. [王延年, 郑忠庆, 周永生, 1984. 昆虫人工饲料手册. 上海: 上海科学技术出版社. 1 -2, 286]

Wu KJ, 1985. A lucerne-wheat germ diet for rearing the cotton bollworm, *Heliothis armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 28(1): 22 -29. [吴坤君, 1985. 棉铃虫的紫云英-麦胚人工饲料. 昆虫学报, 28(1): 22 -29]

Yuan ZM, Xiong JY, Zhang YS, 2007. A novel combinatorial forecast method based on support vector machine regression and k-near neighbor group and its application in QSAR. *Journal of Molecular Science*, 23(3): 163 -169. [袁哲明, 熊洁仪, 张永生, 2007. 基于 SVR 和 k-近邻群的组合预测在 QSAR 中的应用. 分子科学学报, 23(3): 163 -169]

Zhuo YS, Huang YL, Yang JR, 1981. Studies the artificial diets of the cotton bollworm *Heliothis armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 24(1): 108 -110. [卓乐姒, 黄月兰, 杨家荣, 1981. 棉铃虫人工饲料的研究. 昆虫学报, 24(1): 108 -110]

(责任编辑: 袁德成)